

THESIS

MUNICH

1967

Der Einfluß von Äthylalkohol
auf freie und gesamt veresterte
Fettsäuren in Untersuchungen
am Modell der
isoliert perfundierten Rattenleber

REINHARD KLEIN

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF. 94304



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153307_0015

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel

DER EINFLUSS VON ÄTHYLALKOHOL AUF FREIE UND GESAMT
VERESTERTE FETTSÄUREN IN UNTERSUCHUNGEN AM MODELL
DER ISOLIERT PERFUNDIERTEN RATTENLEBER

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Reinhard Klein

aus

Wuppertal/Westfalen

München 1967

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. K. Kopetz
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. G. Bodochtel
Dekan: Prof. Dr. M. Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 20. 6. 1967

I N H A L T

	Seite
Einleitung	1
Versuchsanordnung	3
Beschreibung der Ergebnisse	7
Diskussion	10
Zusammenfassung	14
Tabellenanhang	15
Graphische Darstellung	30
Literaturverzeichnis	33
Lebenslauf	

In der Arbeit werden die Abkürzungen verwendet:

NFS = nicht veresterte Fettsäuren

GVFS = gesamt veresterte Fettsäuren

Einleitung

Untersuchungen der letzten Jahre haben ergeben, daß die alkoholische Fettleber bei Fortdauer der Alkoholfuhr in die alkoholische Lebercirrhose übergehen kann (POPPER ¹⁾).

Der Zusammenhang zwischen Alkoholkonsum und Fettleber ist allgemein anerkannt, dagegen bestehen unterschiedliche Ansichten über die Entstehung der Fetteinlagerung in der Leber.

Nach der am häufigsten vertretenen Auffassung geht der Leberverfettung eine Mobilisation von Depotfett in der Körperperipherie voraus, die wiederum durch eine Ausschüttung von Hormonen der Hypophyse und Nebenniere ausgelöst wird.

Diese Theorie wird von Autoren vertreten, die einen erhöhten Spiegel der Plasmalipide im Blut unter Alkoholbelastung fanden ²⁻⁵⁾. Andere Autoren konnten diese Ergebnisse nicht bestätigen, oder haben widersprechende Befunde erhoben ⁶⁻⁸⁾.

Als zweite Möglichkeit nimmt man eine direkte Wirkung des Alkohols auf den Fettstoffwechsel der Leber an: Bei der Oxydation von Äthanol zu Acetaldehyd wird DPN als Coenzyme zu DPNH reduziert. Die dadurch steigende Konzentration des DPNH in der Leber soll fördernd auf die Synthese der Fettsäuren wirken ⁹⁾.

Die Veränderung des Eiweißstoffwechsels der Leber und die damit verbundene Blockierung der Abgabe von Triglyceriden an das Blut in Form von Lipoproteiden ist nach der dritten Auffassung die Ursache der Verfettung. In diesem Sinne ist wahrscheinlich auch die Wirkung der veränderten Ernährung beim chronischen Alkoholismus zu verstehen ^{10,11)}.

Mit dem System der isoliert perfundierten Rattenleber war es uns möglich, die Wirkung akuter Alkoholbelastung auf die Leber unter Ausschluß hormoneller Faktoren und ohne periphere Fettdepots zu beobachten. Änderten sich die Stoffwechselgrößen im Lebergewebe oder in dem halbsynthetischen Perfusionsmedium, so konnten wir auf eine Änderung des Leberstoffwechsels selbst schließen.

Es muß allerdings gesagt werden, daß eine aus dem Organismus isolierte Leber nur mit gewissen Einschränkungen als physiologisches Modell zu betrachten ist.

Während unserer Versuche waren die Lebern jedoch in dem gegebenen Rahmen voll funktionsfähig, was anhand ihres Aussehens, der Galleproduktion und der Untersuchung der Metabolitkonzentrationen im Perfusionsmedium und in der Leber, wie sie von HOHORST, KREUZ und BÜCHER ¹⁴⁾ sowie von BÜCHER und KLINGENBERG ¹⁵⁾ angegeben wurde, überprüft wurde. Diese Metabolitkonzentrationen entsprachen einem "in vivo status".

Versuchsanordnung

Als Spender der in unseren Versuchen perfundierten Rattenlebern wurden männliche Tiere eines Sprague-Dawley-Stammes im Gewicht von 240-350 g (Zucht: Willi Gassner, München-Ottobrunn) verwendet.

Die Tiere erhielten als Standarddiät Altromin R (Firma Altrogge, Lage/Lippe) und Wasser ad libitum bis zum Versuchsbeginn. Zur Operation wurden die Tiere mit 0,25-0,3 ml Nembutal i.p. narkotisiert.

Die Methode der Perfusion der isolierten Rattenleber geht auf grundlegende Arbeiten von MILLER¹⁶⁾ und BRAUER¹⁷⁾ zurück. Sie wurde von uns in einer Modifikation von SCHIMASSEK¹⁸⁾ aus dem BÜCHER'schen Institut übernommen. Der Aufbau unserer Apparatur entspricht fast genau der Anordnung von SCHIMASSEK. Es wurde lediglich auf die kontinuierliche Sauerstoffmessung verzichtet. In Abständen durchgeführte Messungen der Sauerstoffsättigung (Oxymeter Atlas) des Perfusats aus dem Sammelgefäß ergaben Werte von 97-98,5 %.

Die Apparatur ist in einem Kunststoffgehäuse untergebracht, das durch einen Thermostaten auf einer konstanten Temperatur von $36,5 \pm 0,5$ °C gehalten wird.

Das Perfusat wird durch eine Rollenpumpe über einen Film-oxygenator geleitet. In diesem erfolgt der Gasaustausch mit dem im Gegenstrom an der Lösung vorbeigeführten reinen Sauerstoff. Das oxydierte Blut gelangt durch eine in die Pfortader eingeführte Polyäthylenkanüle in die Leber und über ein Abnahmegefäß in den Sammelkolben.

Die Perfusionen wurden unmittelbar nach Eröffnung der Pfortader in situ begonnen, so daß die Phase der absoluten Anoxie auf Sekunden beschränkt werden konnte.

Das Perfusionsmedium wurde aus gewaschenen Rindererythrozyten, Rinderalbumin reinst (Behring/Marburg) in einer Konzentration von 2,6 g/l, 100 mg% Glukose und Terramycin 100 mg/l Tyrodelösung hergestellt.

Die Perfusion wurde mit einer Perfusatmenge von 250 ml begonnen; nach 60, 120, 130, 150, 180, 240 Minuten wurden je 25 ml Perfusat aus dem Abnahmegefäß entnommen.

Nach 120' wurde in den Kontrollversuchen 20 ml Tyrodelösung, in den Belastungsversuchen 0,074 und 0,74 ml Äthanol p.a. Merck (gelöst in 20 ml Tyrodelösung) zugesetzt, was auf die Perfusatmenge umgerechnet einer Konzentration von 0,3 % und 3 % Alkohol entspricht.

Zur Bestimmung im Lebergewebe wurden Läppchen entnommen und die zuführenden Gefäße im Läppchenstiel unterbunden. Läppchen wurden unmittelbar nach Einbringen in die Kammer, nach 120', 130' und am Ende der Perfusion entnommen.

Die Leberläppchen wurden sofort nach Abnahme zur Aufbereitung mit ca. 16 ml 1:1-Chloroform:Methanol-Lösung in einem 50 ml Erlenmeyerkolben fixiert und gewogen. Mit einem Homogenisator wurden sie in diesem Gefäß homogenisiert, wobei Gewebsreste am Homogenisator mit wenigen ml 1:1-Chloroform:Methanol nachgespült und das Gerät zwischen dem Homogenisieren der einzelnen Proben gereinigt wurde. Das Homogenisat wurde dann mit 8 ml 2:1-Chloroform:Methanol-Lösung versetzt und im Wasserbad bei 70°C bis zum Aufsteigen von Bläschen erhitzt. Wieder abgekühlt, wurde es in Scheidetrichter abfiltriert und Reste in den Erlenmeyerkolben mit zweimal 4 ml 2:1-Chloroform:Methanol nachgespült. Um die wässrige Phase abzutrennen, mußten die Proben mit 8 ml 0,5 n-NaH₂PO₄-Lösung ausgeschüttelt werden und über Nacht stehen bleiben. Die Chloroformphase wurde dann in 50 ml-Bechergläser abgeschieden und im Vakuumextraktor bei 65°C abgedampft. Der Rückstand wurde wieder mit 5 ml Chloroform aufgenommen.

Für die Bestimmung der GVFS wurden 0,2 ml davon in Reagensgläser abpipetiert und im Vakuumextraktor wieder eingedampft. Anschließend wurde ihr Gehalt mit der Farbreaktion nach RAPPORT und ALONZO ¹⁹⁾ gemessen.

Für die Bestimmung der NFS wurden 4 ml des wieder in Chloroform

aufgenommenen Rückstandes nach dem von CARLSON und WADSTRÖM ²⁰⁾ angegebenen Verfahren über Säulen mit Silikagel:Hyflosupercel 2:1 mit Chloroform-Elution chromatographisch gereinigt. Aus dem Perfusionsmedium wurde das "Serum" für die Bestimmung durch Zentrifugieren gewonnen.

Die Bestimmung der NFS im Serum und im Lebergewebe erfolgte nach der Methode von DOLE ²¹⁾.

Die veresterten Fettsäuren wurden als gesamtveresterte Fettsäuren im Serum und im homogenisierten Lebergewebe nach der Methode von RAPPORT und ALONZO ¹⁹⁾ bestimmt. Die Methode erfaßt als GVFS außer den Neutralfetten auch die Phospholipide und Cholesterinester.

Die statistische Berechnung wurde nach der Methode von WILCOXON (VAN DER WARDEN, Mathematische Statistik, Berlin 1957) vorgenommen. Nach dieser Methode wurden die Werte der Kontrollversuche und die nach Belastung mit 0,3 und 3 %-iger alkoholischer Lösung verglichen. In den Tabellen wurden die zu den einzelnen Vergleichen gehörenden Signifikanzschranken (p-Werte) angegeben; "-" bedeutet eine Signifikanzschranke über 0,05; der p-Wert 0 stellt die höchste erreichbare Signifikanz dar. Alle p-Werte beziehen sich auf einseitige Anwendung des Tests; bei zweiseitiger Anwendung ist der doppelte Betrag zu nehmen.

Die Änderung der Gesamtmenge an GVFS in der Leber wurde aus den Mittelwerten der gemessenen relativen Werte berechnet, wobei das durchschnittliche Lebergewicht mit 10 g angenommen wurde.

Die Berechnung der Änderung der absoluten Mengen an NFS und GVFS im Perfusionsmedium, die während der Meßintervalle tatsächlich zwischen Leber und "Blut" ausgetauscht wurden, beruht ebenfalls auf den Mittelwerten der gemessenen relativen Werte in den einzelnen Versuchsserien. Es wurde dabei berücksichtigt, daß sich das Volumen des Perfusionsmediums ständig änderte, da Proben von je 25 ml zur Analyse in der oben angegebenen Weise entnommen wurden, und nach 120' 20 ml Tyrodelösung zugegeben wurde.

Um die Leistung der Leber beurteilen zu können, wurden die so erhaltenen Werte in einer weiteren Tabelle auf den Zeitraum von 60' bezogen. Eine Zunahme der NFS und GVFS im Serum oder in der Leber wurde mit "+" bezeichnet, eine Abnahme mit "-".

Beschreibung der Ergebnisse

Bei Perfusion der isolierten normalen Rattenleber und Bestimmung der verschiedenen Parameter zeigte sich in allen Versuchen ein übereinstimmendes Verhalten.

In der Perfusionslösung waren je nach Albumincharge NFS in unterschiedlichen Mengen vor Beginn der Perfusion nachweisbar (Tab. 1); in den ausgewerteten Versuchen fanden sich 400-1500 μ Val/l. Diese Ausgangswerte zeigten im Verlauf der Perfusion einen raschen Abfall und erreichten innerhalb von 120-130 Minuten einen konstanten Spiegel von 161-340 μ Val/l, der mit geringen Schwankungen bis zum Versuchsende beibehalten wurde.

Die GVFS (Tab. 2) konnten in Mengen von 100-600 μ Val/l im frisch bereiteten Medium bestimmt werden. Im Verlauf der Perfusion ließen sie einen ununterbrochenen Anstieg erkennen. Die geringe Senkung des Kurvenverlaufs nach 120' war als Verdünnungseffekt durch Zusatz von 20 ml Tyrodelösung zu deuten. Bei Abschluß der Perfusion nach 4 Stunden wurde ein Mittelwert von 1151 μ Val/l mit einer Schwankung von 600-1740 μ Val/l erreicht.

Die gleichzeitige Bestimmung der NFS im Lebergewebe ließ keine signifikante Veränderung der Konzentrationen erkennen. Ähnlich verhielten sich die GVFS im Lebergewebe (Tab. 3 u. 4). Die Zunahme in den ersten zwei Stunden der Durchströmung ist nur vorgetäuscht, da die Nullwerte nur bei den letzten fünf Versuchen bestimmt wurden, bei denen die Werte allgemein niedriger lagen als bei den ersten Versuchen, bei denen wir Lebergewebe für die Bestimmung erst nach 120', unmittelbar vor Alkoholzusatz entnommen haben, so daß Vergleichswerte fehlen.

Zusatz von 0,074 ml absolutem Alkohol zeigte als eindrucksvolle Veränderung eine Abweichung des Kurvenverlaufs der NFS im "Plasma" (Tab. 5). Im Gegensatz zu den Kontrollversuchen, in denen dieser noch leicht abgefallen war, stieg er hier inner-

halb von 10' deutlich an, nach 30' wurde die Zunahme noch etwas ausgeprägter. Eine Stunde nach dem Zusatz fiel der Spiegel bereits wieder leicht ab, um nach zwei Stunden fast zum Ausgangswert vor dem Alkoholzusatz zurückzukehren. Im Lebergewebe war keine Änderung der NFS-Konzentration festzustellen (Tab. 6).

Die GVFS im Plasma zeigten nach dieser geringfügigen Belastung keine augenfällige Veränderung. Der Anstieg im Perfusat ist nach Alkoholzusatz mit 521 μ Val/l etwas größer als im Kontrollversuch mit 429 μ Val/l, liegt aber außerhalb der Signifikanz (Tab. 7).

Die Bestimmung der GVFS im Lebergewebe ergab leicht, aber ebenfalls nicht signifikant herabgesetzte Konzentrationen (Tab. 8).

Zusätzliche und wesentlich ausgeprägtere Befunde ergaben sich bei Organperfusion mit einer 3,0 %-igen Äthanollösung. Der Gehalt der NFS im Serum wurde unmittelbar nach Alkoholzusatz, ebenso wie bei der 10-fach geringeren Konzentration, erhöht gefunden, begann dann aber nach 60' nicht wieder abzufallen, sondern betrug zu diesem Zeitpunkt bereits das Doppelte des Ausgangswertes und nahm bis nach zwei Stunden weiterhin zu (Tab. 9).

In der Leber blieb die Menge der NFS während des ganzen Versuchs unverändert (Tab. 10).

Das Verhalten der GVFS im Perfusionsmedium wich von dem der vorhergehenden Versuche ab. Die Zunahme war nicht mehr so ausgeprägt wie in den Kontrollversuchen oder nach geringer Alkoholfuhr. Wir fanden zwei Stunden nach Perfusion mit 3,0 %iger Alkohollösung eine Steigerung um 234 μ Val/l im Vergleich zu 521 μ Val/l nach der geringeren Konzentration und 429 μ Val/l in den Kontrollversuchen (Tab. 11). Dieser Unterschied zum Kontrollversuch ist statistisch gesichert.

In Übereinstimmung mit dem geringen Anstieg im Perfusat ergab sich im Lebergewebe eine ebenfalls signifikante Zunahme der Konzentration der GVFS zwei Stunden nach Alkoholzusatz (Tab. 12).

Bei allen Versuchsreihen unterliegt nach Tab. 13 die Zu- und

Abnahme der absoluten Menge an GVFS in der Leber in kurzen Zeiträumen großen Schwankungen (bei den Kontrollversuchen nehmen sie z.B. von 120'-130' um 90 μ Val ab, bei den Versuchen mit 0,3 % Alkohol in der gleichen Zeit um 60 μ Val), die in keinem Verhältnis zu den Änderungen der im Serum vorhandenen Mengen an NFS und GVFS während des selben Zeitraumes stehen (Tab. 14).

Statistisch quantitativ gesichert ist die stetige Abgabe von etwa 25-60 μ Val/Std GVFS aus der Leber an das Perfusionsmedium in allen Versuchen (Tab. 15).

Ebenfalls aus Tab. 15 wird deutlich, daß die Freisetzung an NFS aus der Leber in den ersten zehn Minuten nach Alkoholzusatz erstaunlich groß ist, und mit 179,2 μ Val/Std bei der Perfusion mit 0,3 %-iger alkoholischer Lösung und mit 157,2 μ Val/Std bei 3,0 % Alkohol in der gleichen Größenordnung liegt. In beiden Versuchsreihen wurde im weiteren Verlauf nur noch ein Bruchteil der anfänglichen Menge in der gleichen Zeit an das Serum abgegeben. Die Reaktion bei den Perfusionen mit 3 % Alkohol hält jedoch viel länger an.

Diskussion

Unsere Versuche haben gezeigt, daß es in der isolierten Rattenleber bei akuter Belastung mit Äthylalkohol zu Veränderungen des Fettstoffwechsels kommt. Solche Veränderungen stellen sich bereits bei Durchströmung mit niedrig konzentrierten alkoholischen Lösungen, nämlich bei 0,3 % ein.

Bei akuter Alkoholbelastung gibt die Leber NFS an das Perfusionsmedium ab. Sowohl bei Perfusionen mit 0,3 % als auch bei denen mit 3,0 % Alkohol kommt es unmittelbar nach Zusatz des Alkohols zu einer sehr heftigen Ausschüttung, die zunächst nicht von der Alkoholkonzentration im Perfusionsmedium abzuhängen scheint. Die Reaktion mit 3,0 % Alkohol hält jedoch länger, bis zum Versuchsende, an.

Weiterhin werden in den Versuchen mit hoher Alkoholbelastung signifikant weniger GVFS von der Leber an das Perfusionsmedium abgegeben als in den Kontrollversuchen und den Perfusionen mit 0,3 % Alkohol.

Ebenfalls nach Belastung mit höheren Alkoholkonzentrationen, und zwar nach 2-stündiger Perfusion, zeigte sich eine Zunahme der GVFS im Lebergewebe. Diese Zunahme geht allerdings über die verringerte Abgabe an das Medium hinaus. Eine Speicherung von Lipiden in der Leber nach akuter Alkoholbelastung ist demnach ohne Lipidmobilisation in peripheren Fettdepots und ohne Mitwirkung des Endokriniums möglich. Diese Lipidspeicherung muß mit unmittelbaren Einwirkungen des Alkohols auf den Leberstoffwechsel in Verbindung gebracht werden.

Diese Ergebnisse lassen sich am besten im Vergleich mit anderen Arbeiten über die Genese der alkoholischen Fettleber beurteilen.

Bei Versuchen mit lebenden Ratten fand S. MALLOV ²⁾ nach Gabe von 6-8 g/kg Alkohol p.o. einen signifikanten Anstieg der Plasma NFS im venösen Blut. Er sah darin einen Beweis für die Hypothese, daß unter Alkohol, bedingt durch eine erhöhte Ausschüttung von Adrenalin, Corticoiden und Hypophysenhormonen, Fett in den Depots mobilisiert wird.

Versuche, die er gemeinsam mit J.L. BLOCH ³⁾ an Tieren durchführte, denen die entsprechenden inkretorischen Drüsen entfernt worden waren, ergaben weitere Anhaltspunkte für diese Annahme. Nach gleichzeitigen Versuchen mit Isopropanol vermutet er aber, daß die beobachteten Erscheinungen wenigstens teilweise durch den allgemeinen "Stress" bedingt sind, den die akute Alkoholintoxikation hervorruft.

MAICKEL und YAMADA ⁴⁾ finden bei normalen Versuchstieren unter maximaler Belastung mit Alkohol (4,8 g/kg p.o.) ebenso wie bei Kälteexposition eine Erhöhung der NFS und Lebertriglyceride.

Hingegen ergeben Versuche von ELKO, WOOLLES und DI LUZIO ⁶⁾ mit Ratten trotz Gabe von gleich großen Mengen Alkohol (6,0 g/kg p.o.) keine signifikante Erhöhung der Plasma NFS im arteriellen Blut, und es gelingt ihnen nicht, am epididymalen Fettkörper junger, männlicher Ratten eine gesteigerte Fettmobilisation unter Alkoholbelastung nachzuweisen.

In unseren Versuchen war die Möglichkeit, daß die Erhöhung der NFS im Perfusionsmedium als Folge einer gesteigerten Freisetzung bestimmter Hormone zustande kommt, durch die Isolierung des Organs ausgeschlossen. Darüber hinaus wurde eine gesteigerte Abgabe der NFS bereits nach Durchströmung des isolierten Organs mit geringen Alkoholkonzentrationen beobachtet, die auch am Ganztier zu keiner Stimulation der Ausschüttung von Hormonen der Nebenniere oder Hypophyse geführt hätte.

Die Ergebnisse der oben genannten Autoren sind mit unseren Versuchsergebnissen nur mit gewissen Einschränkungen vergleichbar, da sie mit ungleich höheren und toxischen bis subletalen Alkoholdosen erhalten wurden.

C.S. LIEBER et al. ⁸⁾ führte Belastungsversuche mit Alkohol am Menschen durch. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der meisten Tierexperimente fiel die Konzentration der Plasma NFS nach Beginn der Infusion von Alkohol (15 vol % Äthanol in isotoner NaCl-Lösung, Einlaufgeschwindigkeit 10 ml/min x 100 kg) i.v.

bis um 30 %, um im weiteren Verlauf der Infusion wieder auf die anfänglichen Werte anzusteigen. Gleichzeitig sprach die a.v.-Differenz der Plasma NFS in den Extremitäten der Versuchspersonen eher für eine Retention als für eine Mobilisation von Depotfett. Auch diese Arbeit spricht gegen eine stress-bedingte Fettmobilisation mit sekundärer Ablagerung in der Leber als Ursache der Entstehung der akuten Fettleber.

Über andere Hinweise auf eine Fettmobilisation wurde nach toxischen Alkoholgaben unter Verwendung von Hungertieren berichtet. So zeigte sich in Untersuchungen von B.B. BROODIE⁵⁾ in den nach Alkoholbelastung in der Leber abgelagerten Triglyceriden der gleiche Linolsäureanteil wie im Depotfett der Körperperipherie. Eine de-novo-Synthese von Triglyceriden hätte ein Absinken des Linolsäureanteils der Lebertriglyceride bedingt, da die Linolsäure selbst durch das Tier nicht synthetisiert werden kann.

Die von den genannten Autoren gewählte Versuchsanordnung begünstigt einerseits die Fettmobilisation in der Peripherie durch Herbeiführung einer Stresssituation mit toxischen Alkoholgaben und hemmt andererseits die Fettsäuresynthese in der Leber durch Hungern der Tiere.

VON BRAND und HELMREICH¹³⁾ konnten bei Untersuchungen mit Leberpressäften nach 48 Stunden Hungern keinen Einbau von Acetat-C¹⁴ in höhere Fettsäuren mehr feststellen. Die genannten Arbeiten stellen deshalb keinen stichhaltigen Einwand gegen unsere Ergebnisse dar.

Nach DI LUZIO et al.⁷⁾ führt Zufuhr von Alkohol auch zu einem Anstieg der Plasmatriglyceride. An der perfundierten Rattenleber ließ sich hingegen nach Durchströmung mit einer 3,0 %-igen alkoholischen Lösung eine verminderte Abgabe der GVFS nachweisen.

Dieser Befund wurde nach Abschluß unserer Versuche von SCHAPIRO et al.¹⁰⁾ bestätigt. Sie verfolgten das Schicksal der Fettsäuren in der isoliert perfundierten Rattenleber mit markierter Palmitinsäure und Alkoholzusatz. Dabei fanden sie

eine erhöhte Speicherung von C^{14} in der Leber, hauptsächlich in der Form von Triglyceriden, neben einer signifikanten Verminderung von C^{14} im Perfusat, die aller Wahrscheinlichkeit nach eine verminderte Ausschüttung von Triglyceriden aus der Leber bedeutet.

Nach Gabe von Äthanol- C^{14} wurde von verschiedenen Autoren ein Einbau von markiertem Kohlenstoff in die Leberlipide nachgewiesen. C.S. LIEBER und R.SCHMID ⁹⁾ berichten über eine signifikante Zunahme der Fettsäuren in Rattenleberschnitten nach Inkubation mit Äthanol. Sie nehmen an, daß das bei Alkoholoxydation anfallende DPNH den Einbau aktivierter Essigsäure in Fettsäuren erhöht.

Eine Steigerung der Fettsäuresynthese nach Zusatz von DPNH fand sich in Untersuchungen an zellfreien Extrakten durch PORTER und WAKIL ¹²⁾ und von v. BRAND und HELMREICH ¹³⁾.

Eine Bestätigung dieser Hypothese steht allerdings noch aus, und bleibt einer weiteren Bearbeitung vorbehalten.

Zusammenfassung

Isolierte Rattenlebern wurden 4 Stunden lang perfundiert. Nach 2 Stunden wurden sie mit Äthylalkohol in der Konzentration von 0,3 % und 3,0 % belastet.

Während der Versuchszeit wurden in bestimmten Zeitabständen die freien und gesamt veresterten Fettsäuren im Perfusionsmedium und im Lebergewebe bestimmt.

Unter Alkoholbelastung waren die NFS im Serum gegenüber den Kontrollversuchen signifikant erhöht.

Bei den Perfusionen mit 0,3 % Alkohol gaben die Lebern nur ca. 30-60 Minuten lang NFS an das Serum ab, bei denen mit 3 % Alkohol hingegen bis zum Versuchsende nach 2 Stunden. Unmittelbar nach Alkoholzusatz wurden die NFS am stärksten an das Serum abgegeben.

Nach der Belastung mit 3,0 % Alkohol wurden gegen Versuchsende von der Leber signifikant weniger GVFS an das Serum abgegeben als in den Kontrollversuchen und denen mit 0,3 % Alkohol.

NFS im Lebergewebe änderten sich nicht signifikant unter Alkoholbelastung, dagegen war 2 Stunden nach Perfusion mit 3,0 % Äthanol ein statistisch zu sichernder Anstieg der GVFS im Lebergewebe festzustellen.

Tabelle 1

Konzentrationen der NFS im "Serum" in
 µm Val/l in den Kontrollversuchen.

Datum	0	60	120	130	150	180	240
1.7.63	996	465	226	173	186	193	199
5.7.63	819	307	220	168	161	205	205
24.7.63	1015	416	339	340	338	400	400
1.8.63	982	356	300	272	286	265	223
9.8.63	1024	463	329	244	256	262	256
23.1.64	657	298	268	193	210	198	210
29.1.64	730	556	187	209	159	187	133
5.2.64	930	346	259	191	215	191	229
11.2.64	653	292	225	296	225	225	225
13.2.64	657	310	247	216	216	232	232
S	8463	3809	2600	2302	2252	2358	2312
M	846	381	260	230	225	236	231

Tabelle 2

Konzentrationen der GVFS im "Serum"
in μ Val/l in den Kontrollversuchen.

Datum	0	60	120	130	150	180	240
1.7.63	106	476	789	720	843	1020	1495
5.7.63	356	751	879	825	926	935	1395
24.7.63	611	694	904	787	866	947	1289
1.8.63	371	765	889	861	1021	1045	1325
9.8.63	449	896	1056	1045	1169	1262	1702
23.1.64	156	237	228	377	447	537	607
29.1.64	310	545		593	558	870	838
5.2.64	336	396	396	398	481	594	822
11.2.64	324	835	982	806	862	1033	1290
13.2.64	401	388	376	486	530	637	750
S	3420	5983	6499	6898	7730	8880	11513
M	342	598	722	690	773	888	1151

Tabelle 5

Konzentrationen der NFS im "Serum"
in m Val/l bei Perfusion mit einer
0,3 %igen Lösung nach 120 Minuten.

Datum	0	60	120	130	150	180	240
24.6.63	950	486	347	574	469	567	556
10.7.63	904	492	492	518	691	625	532
16.7.63	1088	435	415	408	572	463	452
29.7.63	1004	393	255	407	440	364	233
6.8.63	788	464	432	623	623	597	507
16.1.64	585	130	54	271	228	152	141
6.2.64	477	170	77	215	154	92	23
7.2.64	499	301	206	379	307	224	181
10.2.64	1534	700	533	570	625	702	394
12.2.64	1033	484	308	363	413	416	385
=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
S	8862	4055	3119	4328	4522	4202	3404
M	886	406	312	433	452	420	340
=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
p				0,0004	0,0026	0,0376	-

Tabelle 6

Gehalt des Lebergewebes an NFS in m Val/g
Frischgewicht bei Perfusion mit einer 0,3 %-igen
Lösung nach 120 Minuten.

Datum	0	60	120	130	150	180	240
24.6.63			5,8	4,9			3,0
10.7.63			4,1	3,6			3,2
16.7.63			3,1	3,8			4,1
29.7.63			5,0	3,8			3,7
6.8.63			5,9	3,7			3,1
16.1.64	3,0		2,6	2,5			2,2
6.2.64	5,7		3,8	3,9			4,2
7.2.64	2,4		1,6	1,7			1,1
10.2.64	1,6		1,1	1,6			1,4
12.2.64	2,5		1,1	1,4			1,8
=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
S	15,2		34,1	30,9			27,8
M	3,0		3,4	3,1			2,8
=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
p				-			-

Tabelle 7

Konzentrationen der GVFS im "Serum" in m Val/l
bei Perfusion mit einer 0,3 %-igen Lösung nach
120 Minuten.

Datum	0	60	120	130	150	180	240
24.6.63	245	459	467	465	523	573	686
10.7.63	202	254	609	609	914	1025	1855
16.7.63	434	631	757	761	851	1489	2060
29.7.63	358	914	1055	1092	981	1262	1921
6.8.63	257	578	717	723	793	1061	1440
16.1.64	476	602	874	856	888	1090	1275
6.2.64	448	635	700	648	745	834	1216
7.2.64	474	666	716	674	682	750	945
10.2.64	300	530	613	623	772	672	810
12.2.64	300	525	536	463	495	618	745
=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
S	3067	5794	7044	6914	7644	9378	12253
M	307	579	704	691	764	938	1225
=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
P				-	-	-	-

Tabelle 8

Gehalt des Lebergewebes an GVFS in m Val/g
bei Perfusion mit einer 0,3 %-igen Lösung
nach 120 Minuten

Datum	0	60	120	130	150	180	240
24.6.63			196	155			108
10.7.63			88	92			67
16.7.63			126	148			150
29.7.63			169	145			141
6.8.63			157	138			128
16.1.64	157		137	146			104
6.2.64	127		123	105			128
7.2.64	98		80	103			92
10.2.64	85		79	77			72
12.2.64	103		114	98			111
=====							
S	570		1269	1207			1101
M	114		127	121			110
=====							
p				-			-

Tabelle 9

Konzentrationen der NFS im "Serum" in m Val/l
bei Perfusion mit einer 3 %-igen Lösung
nach 120 Minuten.

Datum	0	60	120	130	150	180	240
20.9.63	807	444	231	444	444	576	873
13.11.63	964	477	308	493	539	601	816
18.11.63	834	498	498	660	561	597	772
20.11.63	924	514	285	357	371	713	827
23.11.63	1291	403	218	275	367	427	726
28.11.63	1291	501	312	399	419	582	727
30.11.63	526	398	351	421	456	573	819
3.12.63	1145	536	363	364	419	762	870
17.12.63	1389	368	258	374	381	631	855
19.12.63	1170	550	363	409	492	550	714
=====							
S	10342	4692	3187	4196	4449	6014	7999
M	1034	469	319	420	445	601	800
=====							
p				0	0	0	0

Tabelle 10

Gehalt des Lebergewebes an NFS in m Val/g
 Frischgewicht bei Perfusion mit einer 3 %-igen
 Lösung nach 120 Minuten.

Datum	0	60	120	130	150	180	240
20.9.63	3,1		3,4	5,3			4,5
13.11.63	2,7		2,7	2,9			2,2
18.11.63	2,4		2,6	1,7			2,6
20.11.63	3,6		4,3	3,7			4,6
23.11.63	1,5		2,2	2,2			2,8
28.11.63	1,6		1,8	-			1,5
30.11.63	2,3		1,4	2,0			2,5
3.12.63	3,6		2,1	2,4			2,0
17.12.63	3,0		2,9	2,3			3,6
19.12.63	3,6		2,7	1,8			2,2
=====							
S	27,4		26,1	24,3			28,5
M	2,7		2,6	2,7			2,9
=====							
P				-			-

Tabelle 11

Konzentrationen der GVFS im "Serum" in m Val
bei Perfusion mit einer 3 %-igen Lösung
nach 120 Minuten.

Datum	0	60	120	130	150	180	240
20.9.63	353	525	637	551	567	614	757
13.11.63	509	782	965	981	1050	1008	964
18.11.63	537	616	720	657	753	774	805
20.11.63	383	533	627	618	694	839	855
23.11.63	365	446	690	696	819	899	934
28.11.63	325	531	602	698	710	766	841
30.11.63	277	388	621	565	586	601	744
3.12.63	391	523	702	622	695	1169	1505
17.12.63	114	357	504	481	504	586	718
19.12.63	385	502	563	514	693	619	847
=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====	=====
S	3639	5203	6631	6383	7071	7875	8967
M	364	520	663	638	707	788	897

Ein Vergleich der Differenzen der GVFS-Werte bei 120' und
240' mit dem Kontrollversuch ergibt einen p-Wert von 0,001.

Tabelle 12

Gehalt des Lebergewebes an GVFS in m Val/g
bei Perfusion mit einer 3 %-igen Lösung
nach 120 Minuten.

Datum	0	60	120	130	160	180	240
20.9.63	-		119	122			188
13.11.63	89		104	88			142
18.11.63	70		87	76			121
20.11.63	120		103	112			112
23.11.63	95		99	-			127
28.11.63	120		98	108			115
30.11.63	98		84	81			89
3.12.63	95		92	94			83
17.12.63	68		80	96			144
19.12.63	139		147	139			177
=====							
S	876		1013	916			1298
M	97		101	102			130

Ein Vergleich der Differenzen der GVFS-Werte bei 120 und
240' mit dem Kontrollversuch ergibt einen p-Wert von 0,0026.

Tabelle 13

Änderung der GVFS in μ Val auf das
ganze Organ (durchschnittliches
Lebergewicht = 10 g) bezogen.

Zeitraum	Kontrolle	0,3% Alkohol	3,0% Alkohol
0' -120'	+ 230	+ 130	+ 40
120' -130'	- 90	- 60	+ 10
130' -240'	+ 60	- 110	+ 280

Tabelle 14

Absolute Änderung der NFS und GVFS
im Perfusat in/n Val.

Zeitraum	Kontrolle		0,3% Alkohol		3,0% Alkohol	
	NFS	GVFS	NFS	GVFS	NFS	GVFS
0 - 60	-105,0	+57,6	-108,0	+61,2	-127,0	+35,1
60-120	- 24,2	+24,8	- 18,8	+25,0	- 30,0	+28,6
120-130	- 0,6	+ 8,3	+ 29,9	+11,8	+ 26,2	+ 8,3
130-150	- 0,8	+14,1	+ 3,2	+12,4	+ 4,3	+11,7
150-180	+ 1,6	+16,7	- 4,6	+25,2	+ 22,6	+11,8
180-240	- 0,6	+31,6	- 9,6	+34,4	+ 23,9	+13,1

Tabelle 15

Zu- oder Abnahme der NFS und GVFS im
Serum nach Tab. 14 zum Vergleich auf
1 Stunde umgerechnet in μ Val/Std.

Zeitraum	Kontrolle		0,3 % Alkohol		3,0 % Alkohol	
	NFS	GVFS	NFS	GVFS	NFS	GVFS
0 - 60	-105,0	+57,6	-108,0	+61,2	-127,0	+35,1
60-120	- 24,2	+24,8	- 18,8	+25,0	- 30,0	+28,6
120-130	- 3,6	+49,7	+179,2	+71,0	+157,2	+49,8
130-150	- 2,5	+42,3	+ 9,6	+37,2	+ 12,8	+35,1
150-180	+ 3,2	+33,4	- 9,2	+50,4	+ 45,2	+23,6
180-240	- 0,6	+31,6	- 9,6	+34,4	+ 23,9	+13,1

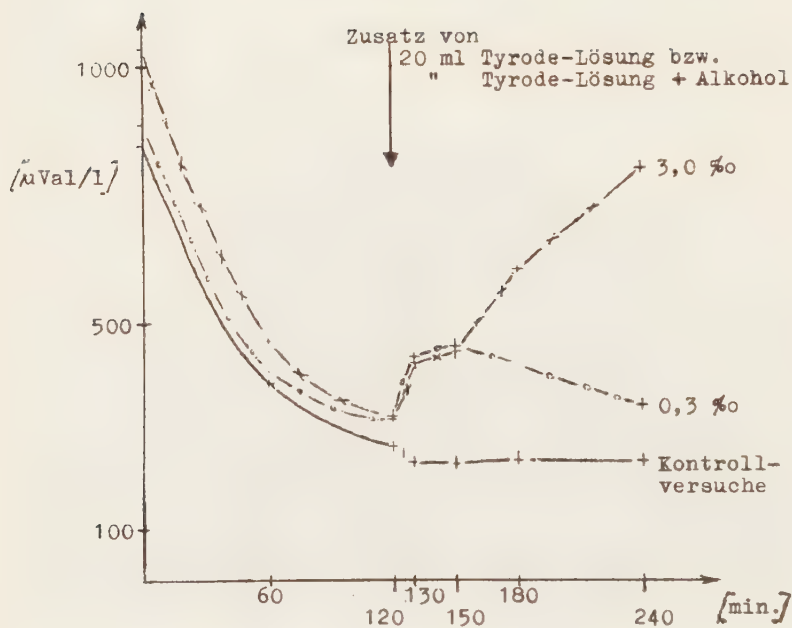


Abb. 1 Das Verhalten der NFS im Serum in den Kontrollversuchen ohne Alkohol und den Perfusionen mit 0,3 bzw. 3,0 % Alkohol.

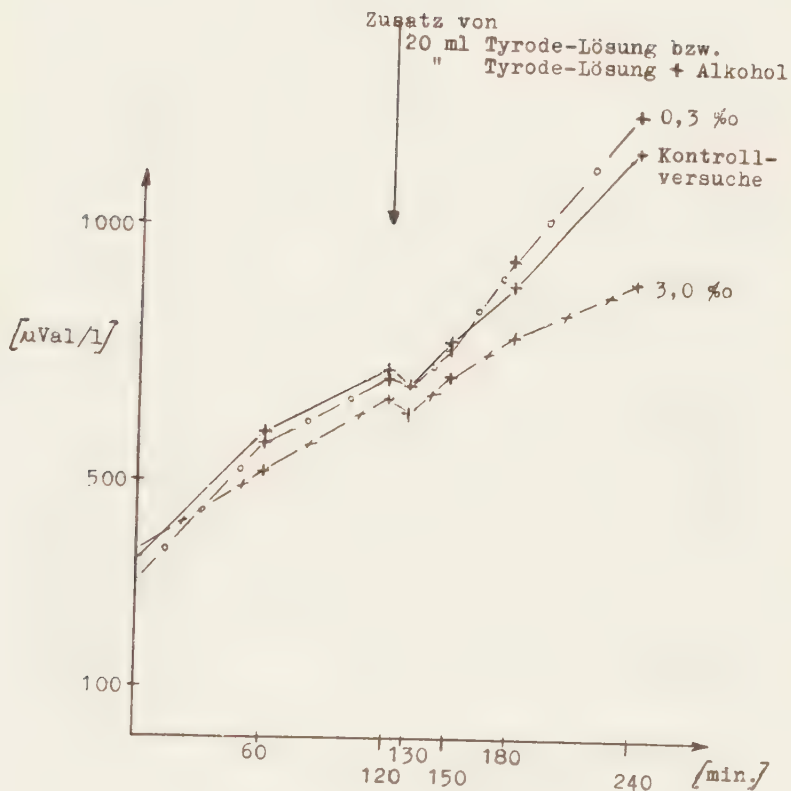


Abb. 2 Das Verhalten der GVFS im Serum in den Kontrollversuchen ohne Alkohol und den Perfusionen mit 0,3 bzw. 3,0 ‰ Alkohol.

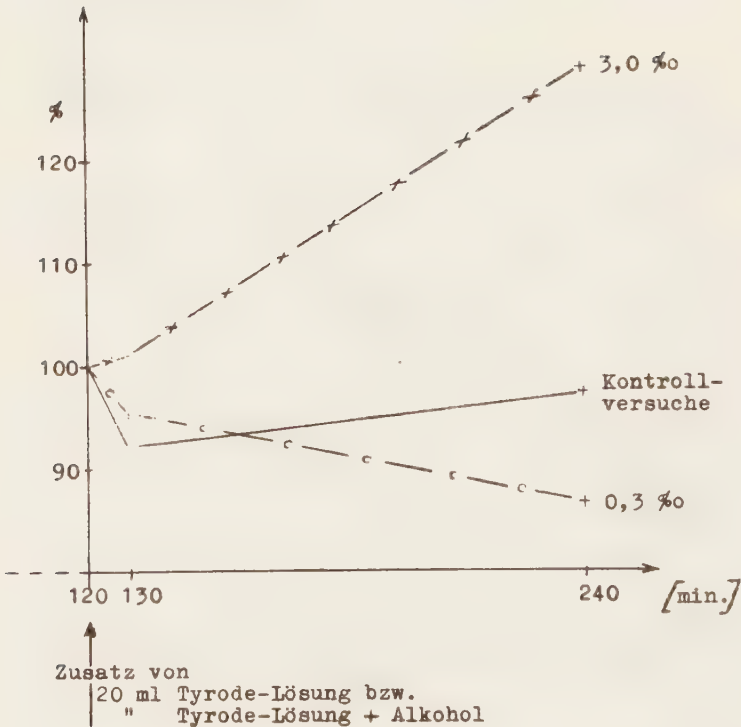


Abb. 3 Das Verhalten der GVFS im Lebergewebe in den Kontrollversuchen ohne Alkohol und nach Belastung mit 0,3 bzw. 3,0 ‰ Alkohol. Die Ausgangswerte nach 120', unmittelbar vor Belastung, wurden gleich 100 gesetzt, und die Änderungen im weiteren Verlauf prozentual dazu gegeben.

Literaturverzeichnis

- 1) POPPER, H. Morphologie and biochemical aspects of fatty liver.
Acta hepato-splenol. 9, 279 (1961)
- 2) MALLOV, S. Effect of ethanol intoxication on plasma free fatty acids in the rat.
(Quart) J. Stud. Alcohol 22, 250 (1961)
- 3) MALLOV, S. u. J.L. BLOCH Role of hypophysis and adrenals in fatty infiltration of liver resulting from acute ethanol intoxication.
Am. J. Physiol. 184, 29 (1956)
- 4) MAICKEL, R.R. u. K. YAMADA Dynamic biochemical processes involved in the production of a fatty liver.
Advances in enzyme regulation 1963, Vol.I, Ed.by George Weber, Pergamon Press, New York, S. 235
- 5) BROODIE, B.B. W.M. BUTLER, M.G. HORNING, R.P. MAICKEL u. H.M. MALING Alcohol-induced triglyceride deposition in liver through derangement of fat transport.
Am. J. Clin. Nutr. 9, 432 (1961)
- 6) ELKO, E.E., W.R. WOOLLES u. N.R. DI LUZIO Alteration in mobilisation of lipids in acute ethanol treated rats.
Am. J. Physiol. 201, 923 (1961)
- 7) DI LUZIO, M.R. u. M. POGGI Role of liver and adipose tissue in the pathogenesis of the ethanol fatty liver.
Fed. Proc. 22, 398 (1963)
- 8) LIEBER, C.S., C.M. LEEVY, S.W. STEIN, W.S. GEORGE, G.R. CHERNICK, W.H. ABELMANN u. C.S. DAVIDSON Effect of ethanol on plasma free fatty acids in man.
J. Lab. Clin. Med. 59, 826 (1962)
- 9) LIEBER, C.S. u. R. SCHMID Stimulation of hepatic fatty acids synthesis by ethanol.
Am. J. Clin. Nutr. 9, 436 (1961)
- 10) SCHAPIRO, R.H., G.D. DRUMMEY, YOSHIKATA SHIMIZU u. K.J. ISSELBACHER Studies on the pathogenesis of ethanol-induced fatty liver. II. Effect of ethanol on palmitate-1- C^{14} metabolism by the isolated perfused rat liver.
J. of Clin. Invest. 43, 1338 (1964)

- 11) HARPER, A.E.,
W.J. MONSON,
D.A. BENTON,
H.E. WINJE u.
C.A. ELVEHJEM Factors other than cholin which
affect deposition of liver fat.
J. Biol. Chem. 206, 151 (1954)
- 12) PORTER, J.W.,
S.J. WAKIL
A. TIETZ
M.J. JAKOBS u.
D.M. GIBSON Studies on the mechanism of fatty
acid synthesis. II, Cofactor
requirements of the soluble pigeon
liver system.
Biochem. biophys. Acta 25, 35 (1957)
- 13) v. BRAND, V. u.
E. HELMREICH Beziehungen der Glykolyse zum Fett-
stoffwechsel.
Biochem. Z. 328, 146 (1956)
- 14) HOHORST, H.J.,
F.H. KREUZ u.
TH. BÜCHER Über Metabolitkonzentrationen in der
Leber der Ratte.
Biochem. Zschr. 332, 18 (1959)
- 15) BÜCHER, TH. u.
M. KLINGENBERG Wege des Wasserstoffs in der lebendigen
Organisation.
Angew. Chem. 70, 552 (1958)
- 16) MILLER, L.L.,
C.G. BLY,
M.L. WATSON u.
W.F. BALE The dominant role of the liver in
plasma protein synthesis. A direct
study of the isolated perfused rat
liver with the aid of lysin- -c.
J. exp. Med. 94, 431 (1951)
- 17) BRAUER, R.W.,
R.L. PESOTTI u.
P. PIZZOLATO Isolated rat liver preparation, bile
production and other basic properties.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 78, 174 (1951)
- 18) SCHIMASSEK, H. Metabolite des Kohlenhydratstoff-
wechsels der isoliert perfundierten
Rattenleber.
Biochem. Zschr. 336, 460 (1963)
- 19) RAPPORT, H.M. u.
N. ALONZO Photometric determination of fatty
acids ester groups in phospholipids.
J. Biol. Chem. 217, 193 (1955)
- 20) CARLSON, L.A. u.
L.B. WADSTRÖM Determination of glycerides in blood
serum.
Clin. Chem. Acta 4, 197 (1959)
- 21) DOLE, V.P. A relation between non esterfied fatty
acids in plasma and the metabolism of
glucose.
J. Clin. Invest. 35, 150 (1956)
- 22) FREDRICKSON, D.S. u.
R.S. GORDON jr. Transport of fatty acids.
Physiol. Rev. 38, 585 (1958)
- 23) DOLE, V.P. u.
J.T. HAMLIN III Particulate fat in lymph and blood.
Physiol. Rev. 42, 674 (1962)

Lebenslauf

Am 21. Mai 1940 wurde ich als dritter Sohn des Textilfabrikanten Fritz Klein und seiner Ehefrau Margarethe Klein geb. Sönnecken in Wuppertal geboren.

Mit 7 Jahren wurde ich dort in die Volksschule eingeschult, und besuchte von 1951 an das mathematisch-naturwissenschaftliche Carl-Duisberg-Gymnasium in Wuppertal-Barmen.

Nach dem Abitur begann ich 1960 das Studium der Medizin an der Philipps-Universität in Marburg, wo ich im März 1961 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Oktober 1962 die ärztliche Vorprüfung ablegte.

Vom Wintersemester 1962/63 an studierte ich zur klinischen Ausbildung an der Ludwig-Maximilians-Universität in München.

Im August 1966 schloß ich dort das Studium mit dem Staatsexamen ab.

Die hier vorgelegte Arbeit erhielt ich von Herrn Priv. Dozent Dr. med. K. Kopetz in der II. Medizinischen Universitätsklinik in München, die von Herrn Professor Dr. med. G. Bodechtel geleitet wird.

Für Anleitung und Hilfe danke ich Herrn Dozent Dr. med. K. Kopetz sowie Frau Höllerer, Fräulein Schwarz und Fräulein Zech als chem. techn. Assistentinnen.

